



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

YAMAARA BRAGA ANDRADE

AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAULE DE
HYPTIS FRUTICOSA* SALZM. EX BENTH.: UM ESTUDO *IN VITRO

São Cristóvão, SE

Maio de 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

YAMAARA BRAGA ANDRADE

**AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAULE DE
HYPTIS FRUTICOSA SALZM. EX BENTH.: UM ESTUDO *IN VITRO***

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como exigência para
obtenção do título de **Bacharel em
Farmácia**. Área de concentração:
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo
Cavalcante Duarte

**São Cristóvão, SE
Maio de 2016**

RESUMO

ANDRADE, Y. B. **Avaliação antioxidante do extrato etanólico do caule de *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth.: um estudo *in vitro***. Artigo para trabalho de conclusão do curso de Farmácia da Universidade Federal de Sergipe, 2016.

Hyptis fruticosa é um sub-arbusto pertencente à família Lamiaceae, comumente encontrado na costa do nordeste brasileiro e popularmente utilizado como planta medicinal no tratamento para dor e outras afecções. No entanto, ainda há poucos relatos sobre a atividade biológica de *H. fruticosa* e não há relatos sobre estudos com seu caule. Diante do contexto, esse trabalho consiste em fornecer o perfil antioxidante *in vitro* do extrato etanólico do caule de *Hyptis fruticosa* (EEHF). No presente estudo, foi determinado o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais, que mostraram concentrações significantes na planta. A atividade antioxidante foi determinada pelos testes de varredura de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e óxido nítrico (NO), capacidade de transferência de elétrons por potencial redutor (FRAP) e inibição da peroxidação lipídica pelo método TBARS, onde EEHF demonstrou boa resposta em todos os testes nas concentrações testadas. O presente estudo representa o primeiro relatório sobre o efeito antioxidante do caule de *Hyptis fruticosa* e tem o propósito de servir como suporte para futuros estudos com a planta.

PALAVRAS-CHAVE: *Hyptis fruticosa*; caule; atividade antioxidante; *in vitro*.

ABSTRACT

ANDRADE, Y. B. **Antioxidant evaluation of the *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. stem ethanol extract: An *in vitro* study.** Article for completion work of Pharmacy course at the Federal University of Sergipe, 2016.

Hyptis fruticosa is a sub-shrub belonging to the Lamiaceae family, commonly found in the Brazilian northeast coast and popularly used as a medicinal plant in the treatment for pain and other conditions. However, there are few reports on the biological activity of *H. fruticosa* and there are no reports of studies with its stem. On the context, this study is to provide the antioxidant profile *in vitro* of the *Hyptis fruticosa* stem ethanol extract (EEHF). In this study, was determined the content of total flavonoids and phenolic compounds, which showed significant concentrations in the plant. The antioxidant activity was determined by the radical scavenging of 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) and nitric oxide (NO), electron transfer capability by reducing potential (FRAP) and inhibition of lipid peroxidation by TBARS method, where EEHF showed good results in all tests at the concentrations tested. This study represents the first report on the antioxidant effect of *Hyptis fruticosa* stem and is intended to serve as support for future studies with the plant.

KEYWORDS: *Hyptis fruticosa*; stem; antioxidant activity; *in vitro*.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	6
2	MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1	MATERIAL	7
2.2	MÉTODOS	8
2.2.1	Extração etanólica do caule de <i>Hyptis fruticosa</i>	8
2.2.2	Determinação de compostos fenólicos totais	8
2.2.3	Determinação de flavonoides totais	8
2.2.4	Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH	9
2.2.5	Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)	9
2.2.6	Determinação da atividade antioxidante total pela redução de NO	10
2.2.7	Determinação de TBARS após lipoperoxidação em homogenato de cérebro de ratos	10
3	RESULTADOS	10
3.1	COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS	10
3.2	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL PELA CAPTURA DO RADICAL LIVRE DPPH	11
3.3	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL PELO MÉTODO DE REDUÇÃO DO FERRO (FRAP)	11
3.4	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL PELA REDUÇÃO DE NO	12
3.5	DETERMINAÇÃO DE TBARS APÓS LIPOPEROXIDAÇÃO EM HOMOGENATO DE CÉREBRO DE RATOS	13
4	DISCUSSÃO	13
5	CONCLUSÃO	16
6	REFERÊNCIAS	17

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é uma prática relatada desde as antigas civilizações e, como ciência, vem sendo estudada, aperfeiçoada e utilizada por grande parte da população mundial como terapia alternativa, para a prevenção e profilaxia de diversas doenças (CZELUSNIAK et al., 2012). Esta tendência é particularmente mais predominante nos países em desenvolvimento, onde a maioria das pessoas não têm acesso aos serviços de saúde (DILSHAD et al., 2016).

Estudos mostram que produtos naturais representam uma fonte extremamente valiosa para a produção de novos compostos químicos, visto que tais estruturas são o resultado de um processo evolutivo de milhões de anos (CALIXTO, 2005).

Substâncias de origem vegetal contêm quantidades significativas de compostos, principalmente polifenóis, que possuem inúmeros benefícios à saúde. (DÓRIA et al., 2015). Os polifenóis são um grupo heterogêneo de metabólitos secundários que têm uma estrutura básica contendo grupo funcional hidroxila ligado a um anel aromático (HABERMANN et al., 2016).

Vários estudos têm relatado que muitos destes polifenóis tem atividade antioxidante, assim como efeitos anticancerígenos e antimutagênicos por inibição da proliferação de células (DÓRIA et al., 2015; HANA et al., 2010; BUGARIN et al., 2014).

Os antioxidantes são capazes de inibir ou evitar os processos de oxidação de moléculas vitais nos processos celulares e pode ser produzido tanto no corpo humano como pode ser absorvido a partir da dieta (MACHADO et al., 2015). O estresse oxidativo é a causa principal de muitas doenças, resultado de um desequilíbrio entre a produção e a neutralização de radicais livres, o que causa danos às macro biomoléculas em células humanas saudáveis (GUIMARÃES et al., 2012). Isto pode levar a lesão celular e doenças crônicas, tais como doenças do coração, envelhecimento e doenças inflamatórias (DILSHAD et al., 2016). Assim, os antioxidantes são considerados compostos que possuem atividade anti-

inflamatória, antienvhecimento e de promoção da saúde no corpo humano (DÓRIA et al., 2015).

É notado que a utilização de antioxidantes naturais no tratamento e profilaxia de doenças induzidas pelos radicais livres tem se tornado eficaz para substituir outras drogas, já que produzem poucos efeitos colaterais em comparação com drogas sintéticas, devido à sua baixa toxicidade (MACHADO et al., 2015; DILSHAD et al., 2016).

Hyptis fruticosa Salzm. Ex Benth., popularmente conhecida como “alecrim do campo” ou “alecrim do vaqueiro”, é um sub-arbusto pertencente à família Lamiaceae que cresce até 1,5 m, amplamente encontrado na costa do nordeste brasileiro (SANTOS et al., 2007). Suas folhas são diretamente mastigadas ou utilizadas para fazer chá para o tratamento da dor, sendo considerada uma importante planta medicinal (DE LIMA et al., 2013).

Diferentes estudos têm sido realizados com extratos de *Hyptis fruticosa* Salzm. Ex Benth., demonstrando que esta planta apresenta atividade anti-inflamatória (ANDRADE et al., 2010), efeito antinociceptivo (DE LIMA et al., 2013; SILVA et al., 2006), vasorrelaxante (MOREIRA et al., 2010), hipotensor (SANTOS et al., 2007), além de possuir efeito larvicida no controle do *Aedes aegypti* (SILVA et al., 2008). De Lima et al. (2013) realizou um estudo antioxidante, demonstrando que os compostos fenólicos presentes no extrato hidroalcoólico das folhas de *Hyptis fruticosa* são capazes de reduzir a peroxidação de lipídios, através do teste de lipoperoxidação *in vitro*.

Dessa forma, considerando que estudos anteriores relataram a presença de compostos fenólicos em folhas de *Hyptis fruticosa*, demonstrando a capacidade antioxidante da mesma, o presente trabalho consiste em fornecer o primeiro estudo com informações mais detalhadas sobre o potencial antioxidante *in vitro* do extrato etanólico do caule de *Hyptis fruticosa* (EEHF).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

A espécie *Hyptis fruticosa* Salzm. Ex Benth. (Lamiaceae) foi coletada em 27 de novembro de 2014 no parque nacional Serra de Itabaiana, localizado no município de Areia Branca, Sergipe. A planta foi identificada pela Prof. Dra. Ana Paula Prata, Botânica do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Sergipe (UFS). Um voucher específico foi depositado no Herbário do Departamento de Biologia (UFS), com número de registro ASE 35586.

2.2.1. Métodos

2.2.1 Extração etanólica do caule de *Hyptis fruticosa*

O caule de *Hyptis fruticosa* foi moído em moinho mecânico, onde obteve-se um pó com massa final de 833,96g. Esse pó foi submetido a uma extração a frio com álcool 95% (12 litros) por 72 horas. O extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador rotativo, com rendimento final de 3,24%.

2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo fenólico total em EEHF foi analisado pelo método de Folin-Ciocalteu (Swain; Hillis, 1959). Uma alíquota de 125µL do extrato foi misturada com 2mL de água destilada e agitada. Adicionou-se 125µL de reagente de Folin-Ciocalteu e a mistura foi agitada novamente. Após 3 minutos da adição do reagente de Folin-Ciocalteu, adicionou-se 250µL de solução saturada de carbonato de sódio, agitou-se e foi deixado em repouso por 1 hora. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 720nm. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

2.2.3 Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides foi determinado pelo método de cloreto de alumínio (AlCl₃) (JIA et al., 1999), com algumas modificações. Uma alíquota de 25µL de extrato foi misturada com 100µL de água destilada e posteriormente com solução de NaNO₂ (5% 7,5 µL). Após 6 minutos, adicionou-se a solução de AlCl₃ (10%

7,5 µL) e foi mantida em repouso durante 6 min à temperatura ambiente. Adicionou-se a solução de NaOH (4% 100µL) e água destilada (10µL). Em seguida, a solução foi mantida em repouso durante 15 min. A intensidade da cor rosa foi medida a 510 nm. O teor de flavonoides foi expresso em equivalentes de quercetina.

2.2.4 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

O método DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995) é baseado na captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 517nm. Resumidamente, foi pipetado 50µL do extrato de EEHF (10; 50; 100; 150 e 200 µg/mL) e 150µL de DPPH e incubado à temperatura ambiente no escuro durante 30min. Álcool metílico foi utilizado como branco e a leitura foi feita em leitor de placas a 517nm. A avaliação antioxidante foi realizada em triplicata e os valores de absorbância foram expressos como porcentagem de inibição de DPPH pela equação:

$$\text{Porcentagem de varredura (\%)} = [Ab - Ae] / Ab \times 100$$

Onde Ab é a absorbância do branco e Ae é a absorbância do EEHF.

2.2.5. Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)

O potencial antioxidante do extrato foi determinado usando o teste de redução do ferro (FRAP) de Benzie e Strain (1996). Em tubos de ensaio foi adicionado uma alíquota de 60µL de EEHF (10; 50; 100; 150 e 200 µg/mL), 180µL de água destilada e 1,8mL do reagente FRAP. A mistura foi homogeneizada em agitador de tubos e manteve-se em banho-maria a 37°C por 30 minutos. O procedimento foi realizado em triplicata e leitura foi feita em espectrofotômetro a 595 nm. Os resultados foram expressos em equivalentes de sulfato ferroso, através de uma curva realizada em diferentes concentrações.

2.2.6. Determinação da atividade antioxidante pela varredura do radical NO

Em cada poço da placa foi pipetado 50µL de extrato etanólico do caule de *Hyptis fruticosa* e 50µL de nitroprussiato de sódio (SNP) 20mM e incubado a 37°C por 1 hora. Em seguida, foi adicionado 100µL de reagente de Griess e após 15 minutos foi realizada a leitura em leitor de placas a 540nm. Os resultados foram expressos em equivalente de nitrito sódico.

2.2.7. Determinação de TBARS após lipoperoxidação em homogenato de cérebro de ratos

Após a captação, os cérebros de ratos foram imediatamente lavados com NaCl 0,9% e homogeneizados em uma proporção de 1g de tecido:9mL de tampão fosfato (50mM, pH 7,4). Os homogenatos foram centrifugados a -4°C durante 15 minutos e o sobrenadante obtido foi congelado a -80°C.

A determinação do TBARS foi realizada pela técnica de Ohkawa et al. (1979). 100µL de homogenato do cérebro foi incubado com 50µL do extrato de EEHF (10; 50; 100; 150; 200; 500 e 1000 µg/mL) a 37°C durante 30 minutos. A peroxidação lipídica foi testada de forma espontânea e de forma induzida pela adição de 100µL de sulfato ferroso (0,12M). Posteriormente, foram adicionados 350µL de ácido acético 20% (pH 3,5) e 600µL de TBA a 0,37%. Os tecidos foram incubados durante 1 hora a 85°C. Em seguida foram resfriados em gelo e centrifugados durante 15 minutos à temperatura ambiente. Foi pipetado 200µL da solução final em placa e a leitura foi realizada a 532 nm. A atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de inibição da peroxidação.

3. RESULTADOS

3.1. Compostos fenólicos e flavonoides totais

O total de compostos fenólicos e flavonoides foram expressos como equivalentes de ácido gálico (µg/mg de extrato) e equivalentes de quercetina (µg/mg de extrato), respectivamente. O teor de compostos fenólicos totais em

EEHF foi de 71,3µg de ácido gálico/mg de extrato e o teor de flavonoides foi de 17,25µg de quercetina/mg de extrato.

3.2 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

A capacidade de EEHF em eliminar os radicais DPPH é expresso através do percentual de varredura. A partir da concentração de 50 µg/mL, o extrato mostrou capacidade de varredura de radicais, com resposta dose dependente (Figura 1) e o valor de IC₅₀ foi de 151,8 µg/mL. O controle positivo testado foi o ácido cafeico (10 µg/mL), que é um ácido fenólico com expressiva capacidade antioxidante.

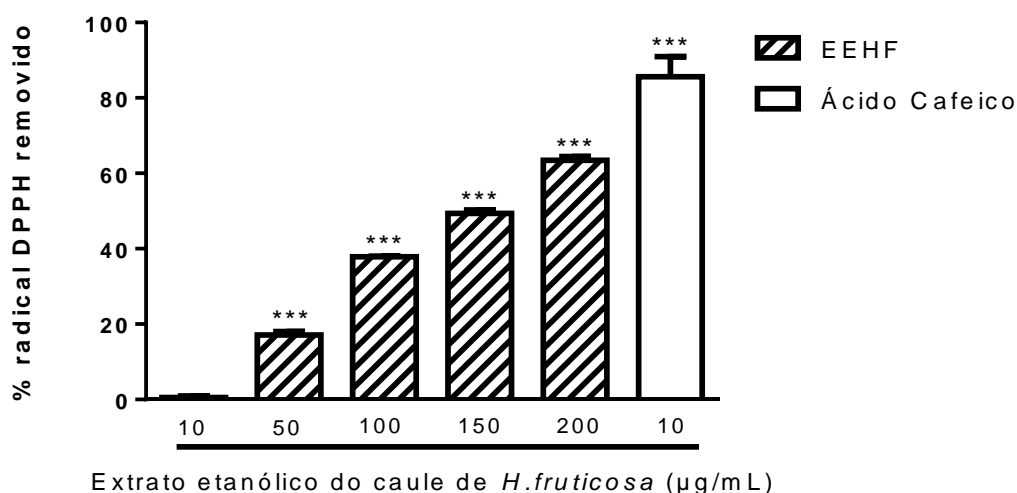


Figura 1: Capacidade antioxidante de EEHF contra o radical DPPH. Os resultados representam a relação entre as concentrações testadas e a porcentagem de varredura.

3.3 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP)

Para avaliar se EEHF foi capaz de reduzir Fe³⁺ a Fe²⁺, foi realizado o ensaio FRAP. Todas as concentrações testadas foram capazes de reduzir o ferro, com resposta dose dependente e a concentração de 200 ug/mL mostrou-se mais eficaz com resultados semelhantes ao ácido cafeico (10 ug/mL) (Figura 2).

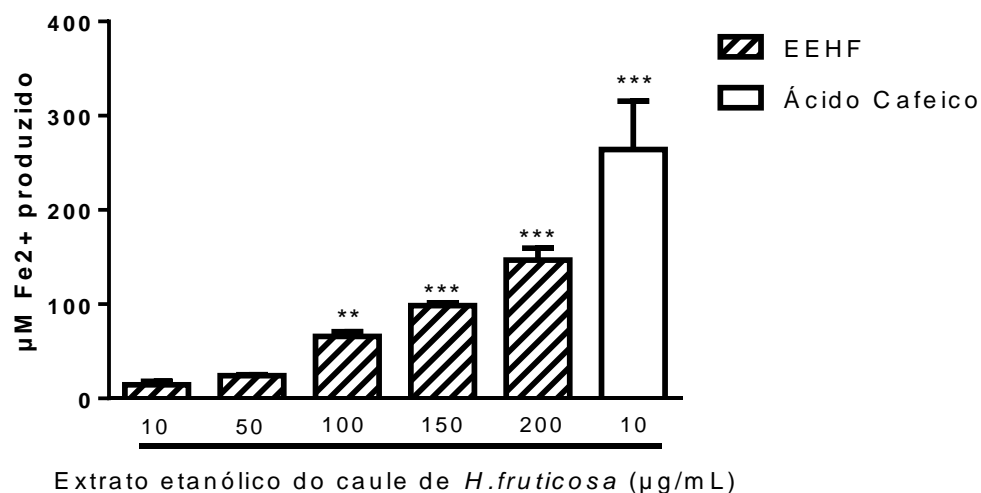


Figura 2: Capacidade antioxidante através da redução do ferro. Os resultados representam a relação entre as concentrações testadas em equivalentes de sulfato ferroso.

3.4 Determinação da atividade antioxidante pela varredura do radical NO

A capacidade do EEHF em eliminar o radical NO foi medido por quantificação da produção de nitrito derivado do nitroprussiato de sódio (SNP) por meio da reação de Griess. Na concentração de 150 µg/mL, EEHF foi mais eficaz, mostrando maior potencial de inibição da produção de íons nitrito. (Figura 3).

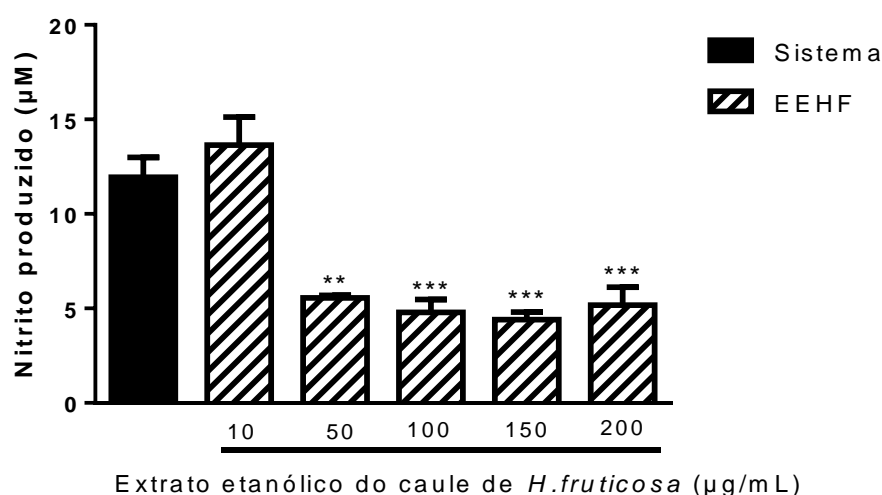


Figura 3: Capacidade antioxidante de EEHF ácido em diferentes concentrações contra a formação de íons nitrito gerado. Os resultados são expressos por equivalentes de nitrito produzido.

3.5 Determinação de TBARS após lipoperoxidação em homogenato de cérebro de ratos

O efeito de diferentes concentrações de EEHF na peroxidação lipídica é mostrado na Figura 4. A peroxidação lipídica foi testada de forma espontânea e de forma induzida pela adição de sulfato ferroso a solução. O extrato só foi eficaz em inibir a peroxidação nas concentrações de 500 e 1000 µg/mL, sendo mais eficiente na peroxidação espontânea.

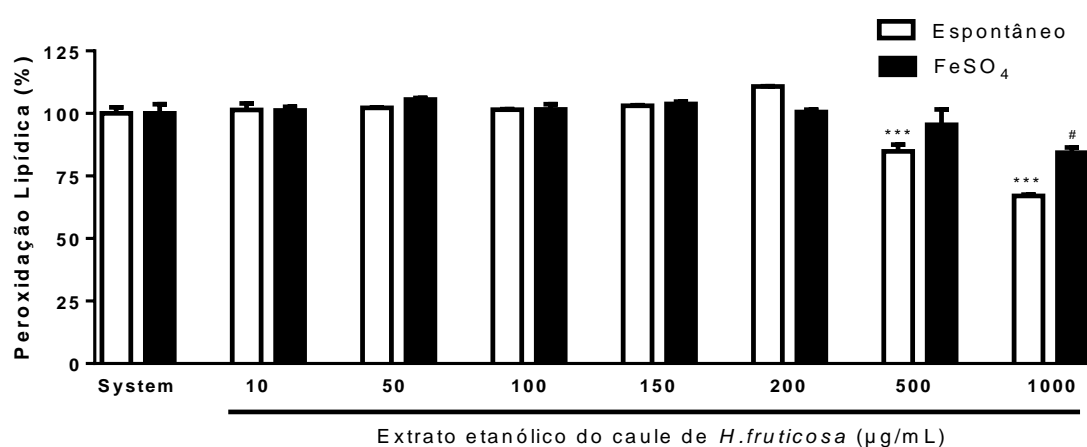


Figura 4: Ensaio TBARS in vitro. Efeito de diferentes concentrações de EEHF na lipoperoxidação.

4. DISCUSSÃO

A *Hyptis fruticosa* Salzm. Ex Benth., tem sido estudada de diferentes formas, demonstrando que esta planta apresenta diversos efeitos biológicos. O extrato etanólico de suas folhas foi utilizado por Andrade et al. (2010) para testar atividade anti-inflamatória, com resultados positivos. O efeito antinociceptivo foi testado por De Lima et al. (2013) no extrato hidroalcoólico das folhas de *Hyptis fruticosa*; por Silva et al. (2006) no extrato aquoso das folhas e por Menezes et. Al (2007) no óleo essencial das folhas, demonstrando atividade antinociceptiva e baixa toxicidade em todos os estudos realizados. Santos et al. (2007) realizou um estudo com óleo essencial das folhas de *H. fruticosa*, mostrando que o mesmo induz efeito hipotensor, provavelmente, devido a uma vasodilatação direta e

consequente diminuição da resistência vascular periférica. Moreira et al. (2010) realizou um estudo com o extrato diclorometano de *H. fruticosa*, demonstrando que o mesmo produz efeito vasorrelaxante na artéria mesentérica superior de ratos, através de uma via independente do endotélio, provavelmente devido à inibição do influxo de Ca^{2+} através de canais de Ca^{2+} operados por voltagem. De Lima et al. (2013) testou também o efeito antioxidante, demonstrando que os compostos fenólicos presentes no extrato hidroalcoólico das folhas de *Hyptis fruticosa* são capazes de reduzir a peroxidação de lipídios, através do teste de lipoperoxidação *in vitro*.

Sabendo-se que os compostos fenólicos são descritos como compostos com propriedades antioxidantes, no presente trabalho foi quantificado compostos fenólicos e flavonoides totais de EEHF e a capacidade antioxidante *in vitro* foi avaliada por métodos distintos: varredura dos radicais DPPH e óxido nítrico (NO), bem como a sua capacidade para transferir elétrons por potencial redutor (FRAP) e inibir a peroxidação lipídica pelo método TBARS.

O método de Folin-Ciocalteu, reconhecido como um dos procedimentos de teste padrão antioxidante (GHAFFARI et al., 2014), quantifica o total de compostos fenólicos em produtos naturais.

A análise preliminar de fitoquímicos em EEHF mostrou resultados positivos para a presença de polifenóis (71,3µg de ácido gálico/mg de extrato) e flavonoides (17,25µg de quercetina/mg de extrato), que podem ser responsáveis pelo potencial antioxidante desta planta.

EEHF demonstrou menor teor de compostos fenólicos totais que o extrato hidroalcoólico de folhas de *Hyptis fruticosa* - 360.51 ± 16.29 mg/g extrato (DE LIMA et al., 2013), possivelmente pela utilização de uma solução extratora hidroalcoólica que é capaz de carregar tanto compostos mais polares quanto os menos polares, significando uma vantagem na extração. Porém, mostrou quantidade de compostos fenólicos e flavonoides similar quando comparado com outras espécies do mesmo gênero, como a *Hyptis suaveolens* (extrato seco), com 74,56µg de ácido gálico/mg de extrato e 28,58µg de quercetina/mg de extrato.

O ensaio de DPPH tem como objetivo medir a capacidade dos extratos em eliminar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), por doação de átomo de

hidrogênio ou de um elétron (MATA et al., 2006). EEHF demonstrou ter boa capacidade de varredura do radical DPPH, com resposta dose dependente e seu IC₅₀ foi de 151,8µg/mL.

No ensaio FRAP, o EEHF foi capaz de reduzir Fe³⁺ a Fe²⁺, através da capacidade de transferência de elétrons, que serve como um indicador importante do potencial antioxidante apresentado por EEHF, evitando assim a geração de radicais livres. O estudo sobre essa capacidade antioxidante é de grande importância, visto que esse tipo de metal livre está envolvido em doenças neurodegenerativas, como doença de Alzheimer, onde concentrações de ferro são encontradas em placas neurais, aumentando o dano oxidativo (DÓRIA et al., 2015).

A capacidade antioxidante pela inibição do óxido nítrico (NO) baseou-se no princípio de que o nitroprussiato de sódio em solução aquosa gera espontaneamente o óxido nítrico, o qual interage com o oxigênio para produzir íons nitrito, que podem ser medidos pelo reagente de Griess (MACHADO et al., 2015). De acordo com os resultados obtidos, EEHF reagiu com óxido nítrico de forma proporcional às concentrações testadas e conseguiu inibir a produção de íons nitrito, podendo regular a produção destas espécies reativas em sistemas biológicos.

A peroxidação lipídica envolve uma cascata de eventos bioquímicos que resultam da ação de radicais livres sobre os lipídios insaturados das membranas celulares, o que leva a uma alteração da permeabilidade, perda de seletividade para a entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas para a célula (MACHADO et al., 2015). O método TBARS tem sido amplamente utilizado para avaliar a extensão da lipoperoxidação *in vitro*. EEHF foi capaz de impedir a peroxidação lipídica nas concentrações de 500 e 1000 µg/mL e foi mais eficiente no método espontâneo, onde o extrato interage apenas com os radicais presentes em solução, sem a ação de um indutor.

Os resultados apresentados sinalizam para uma possível relação entre o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* do EEHF, sugerindo possíveis efeitos biológicos protetores onde o estresse oxidativo está presente.

5. CONCLUSÃO

Este trabalho representa o primeiro estudo sobre o efeito antioxidante do caule de *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., através de testes *in vitro*, mostrando um bom potencial da planta em eliminar radicais livres nas condições testadas e tem o propósito de servir como suporte para futuros estudos com a planta.

6. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A. M. et al. Preliminary study on the anti-inflammatory and antioxidant activities of the leave extract of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20. n.6. Curitiba. 2010.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measurement of 'antioxidant power': the Frap assay. **Anal. Biochem.** v.239, n.1, 1996. p.70–76.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, n.1, 1995. p.25-30.
- BUGARIN, D. et al. Essential Oil of *Eucalyptus Gunnii* Hook. As a Novel Source of Antioxidant, Antimutagenic and Antibacterial Agents. **Molecules** v.19, n.11, 2014. p.19007-19020.
- CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1–2, 2005. p. 131-134.
- DE LIMA, A. C. B. et al. Orofacial antinociceptive effect and antioxidant properties of the hydroethanol extract of *Hyptis fruticosa* salmz ex Benth. **Journal of Ethnopharmacology**. v.146, n.1, 2013. p.192–197.
- DILSHAD, E. et al. Effect of Rol Genes on Polyphenols Biosynthesis in *Artemisia annua* and Their Effect on Antioxidant and Cytotoxic Potential of the Plant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 2016. p.1-13.
- DÓRIA, G. A. et al. Redox-Active Profile Characterization of *Remirea maritima* Extracts and Its Cytotoxic Effect in Mouse Fibroblasts (L929) and Melanoma (B16F10) Cells. **Molecules**. v.20, n.7, 2015. p.11699-11718.
- GHAFFARI, H. et al. Antioxidant and neuroprotective activities of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. against oxidative stress-induced neurotoxicity. **Cell Mol Neurobiol**. v.34, n.3, 2014. p.323–331.
- GUIMARÃES, N. S. et al. *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology**. v.50, n.3–4, 2012, p.1091–1097.

HABERMANN, E. et al. Antioxidant activity and phenol content of extracts of bark, stems, and young and mature leaves from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg. **Brazilian Journal of Biology**. 2016. p.1678-4375.

HANA, K. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. **Food Chemistry**. v.121, n.2, 2010. p.429–436.

MACHADO, K. C. et al. Spectroscopic studies on the in vitro antioxidant capacity of isopentyl ferulate. **Chemico-Biological Interactions**. v.225, 2015. p.47–53.

MATA, A. T. et al. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. **Food Chemistry**. v.103, 2007. p.778–786.

MENEZES, I. A. C. et al. Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* in mice. **Fitoterapia**. v.78, n.3, 2007. p.192-195.

MOREIRA, I. J. A. et al. Vasorelaxant effect of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae, dichloromethane extract on rat mesenteric artery. **Revista Brasileira De Farmacognosia**. v.20, n.5, 2010. p.762-766.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem**. v.95, n.2, 1979. p.351-358.

SANTOS, M. R. V. et al. Cardiovascular effects of *Hyptis fruticosa* essential oil in rats. **Fitoterapia**. v.78, n.3, 2007. p.186-191.

SILVA, A. B. L. et al. Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso da *Hyptis fruticosa* Salmz. ex Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.16. n.4. João Pessoa. 2006.

SILVA, W. J. et al. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**. v.99, n.8, 2008. p.3251-3255.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punns domestica*. I-quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric**. v.19, 1959. p.63-68.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Capacidade antioxidante de EEHF contra o radical DPPH. Os resultados representam a relação entre as concentrações testadas e a porcentagem de varredura.

Figura 2: Capacidade antioxidante através da redução do ferro. Os resultados representam a relação entre as concentrações testadas em equivalentes de sulfato ferroso.

Figura 3: Capacidade antioxidante de EEHF ácido em diferentes concentrações contra a formação de íons nitrito gerado. Os resultados são expressos por equivalentes de nitrito produzido.

Figura 4: Ensaio TBARS in vitro. Efeito de diferentes concentrações de EEHF na lipoperoxidação.